

Aus dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Prof. Dr. H. Keller

Untersuchungen von Kindertrockenmilchpulver auf Colibakterien insbesondere Dyspepsie-Coli

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität in Giessen

eingereicht von
Helmut Gemmer
Tierarzt aus Bad König/Odw.

GIESSEN 1957

**Aus dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen**

Direktor: Prof. Dr. H. Keller

**Untersuchungen von Kindertrockenmilchpulver auf
Colibakterien insbesondere Dyspepsie-Coli**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Justus Liebig-Universität in Giessen

eingereicht von

Helmut Gemmer

Tierarzt aus Bad König/Odw.

GIESSEN 1957

Mit Genehmigung der Veterinär - Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Giessen

Dekan: Professor Dr. R. Wetzel

Berichterstatter: Professor Dr. H. Keller

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Dez. 1957

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
Einleitung	5
Literaturbesprechung	
Bedeutung der Trockenmilch	6
Bakteriologische Betrachtungen	12
Eigene Untersuchungen	23
I. Untersuchungsmaterial	
II. Untersuchungsang	
III. Die Untersuchungsergebnisse	
Zusammenfassung	45
Literaturverzeichnis	48
Lebenslauf	53

Einleitung

Im Laufe der letzten Jahre gewann das Dyspepsie-Coli-Problem eine immer größere Bedeutung. Die veterinärmedizinische Literatur gibt genügend Hinweise auf Infektionen beim Menschen durch Nahrungsmittel tierischen Ursprungs. Über Infektionen mit Dyspepsie-Coli auf Grund infizierter Nahrungsmittel liegen jedoch nur wenige Befunde vor.

Preiss (44) hat sich am hiesigen Institut mit der serologischen Differenzierung von Colistämmen aus Milch- und Fleischproben beschäftigt. Nachdem es ihm nicht gelungen ist, aus diesen Proben Dyspepsie-Coli zu isolieren, er aber bei dyspeptischen Säuglingen der hiesigen Kinderklinik mehrfach Dyspepsie-Coli im Stuhl gefunden hat, wurde ich von Herrn Prof. Dr. Keller beauftragt, im Rahmen einer Dissertation die in der gleichen Kinderklinik verwendete Säuglingsnahrung auf *Escherichia coli*, insbesondere Dyspepsie-Coli zu untersuchen.

Dieses Gebiet ist für die tierärztliche Lebensmitteluntersuchung von Interesse, weil die Säuglingsnahrung aus Milcherzeugnissen hergestellt wird und Milcherzeugnisse der Überwachung und Untersuchung als Nahrungsmittel tierischer Herkunft unterstehen.

- - - - -

Die Bedeutung der Trockenmilch

Während in heißen Ländern der Verbrauch an Trockenmilch schon in früheren Zeiten erheblich war, da diese bei geeigneter Verpackung und Lagerung über mehrere Monate haltbar bleibt, hat die Trockenmilch in Europa erst nach dem Krieg größere Bedeutung gewonnen. Selbst die Einfuhren größerer Mengen aus dem Ausland sind, um Engpässe in der eigenen Versorgung zu umgehen, möglich. So führte Dänemark im Frühjahr 1951 aus Deutschland 5000 to Magermilchpulver ein (34), die vornehmlich der Schokoladeindustrie zugeführt wurden. Die mexikanische Regierung subventionierte im Jahre 1951 die Einfuhr von Trockenmilchpulver, um der eigenen geringen Produktion, verbunden mit Preissteigerungen, entgegenzuwirken (35).

Die Verwendung von Trockenmilch ist eine sehr vielseitige. So werden -- abgesehen von der Verwendung bei der Schokoladeherstellung oder als Bestandteile der Kleinkindernahrung-- z.B. in Belgien bei der Brotherstellung dem Brotteig 3% Trockenmilch beigemischt, wodurch der Nährwert des Brotes auf Grund eingehender Untersuchungen wesentlich erhöht sein soll (36).

Die Hauptbedeutung der Trockenmilch liegt aber wohl in ihrer Verwendung als Säuglings- und Kinderernährungspräparate, die mit gutem Erfolg anstelle von schwerer verdaulicher Kuhmilch einen Mangel an Frauenmilch ausgleichen können.

Die erwähnte relativ schlechte Verträglichkeit der Kuhmilch bei Säuglingen führt Lemke (30) auf die unveränderten kaseinreichen Eiweißkörper zurück, die unter dem Einfluß des Labfermentes bei Gegenwart von Ca-Ionen in gro-

flockiger, schwerverdaulicher Form ausfallen. Bei Frauenmilch dagegen treten unter der Labeinwirkung feinste Flöckchen auf. Lemke ist es gelungen der Kuhmilch Ca zu entziehen und ihren Eiweißgehalt auf den der Frauenmilch einzustellen, so daß die Gerinnungsverhältnisse weitgehend ähnlich wurden. Erst diese Erkenntnisse, die auf künstlichen oder natürlichen Säuerungsprozessen beruhen, gewährleisteten für Kuhmilch eine bessere Verdaulichkeit und brachten die Wissenschaft dem Phänomen der feinflockigen Frauenmilchgerinnung näher.

Auf dieser Grundlage entstehen die verschiedensten Milchpräparate, die nach Behandlung im Trockenverfahren für die Kinderernährung Verwendung finden. Zudem ist die Säuerung der Trockenmilchpulver noch als günstig für die Haltbarkeit sowohl vor wie nach der Zubereitung der Nahrung bis zu ihrem Verbrauch zu bezeichnen, da hierdurch die nicht säureverträglichen Bakterien, zu denen bekanntlich die Hauptmasse der pathogenen Erreger gehört, in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Ein weiterer Vorteil dieser Milchpulver ist die einfache Herstellung von trinkfertiger Nahrung, die bei Beachtung der stets mitgegebenen Anleitung auf den Behältern auch von ungeübten Personen leicht auszuführen ist.

Eingehende Versuche mit den verschiedensten Trockenmilchpräparaten bestätigten zum weitaus größten Teil den hervorragenden Wert dieser Pulver nicht nur als Ersatz für Muttermilch, sondern auch als Heilmittel bei intestinalen Störungen. So befaßte sich Meyer, (31) mit der Untersuchung von Trockenbuttermilch "Eledon", einem nach Langstein (31) seit 1927 hergestellten Präparat, und seiner Anwendung bei ernährungsgestörten Säuglingen. Meyer hatte sowohl bei der Verwendung als Zwiemilchpräparat, in Ver-

bindung mit Muttermilch, als auch bei Ernährung mit Eledon allein durchaus befriedigende Erfolge und kommt zu dem Schluß, daß Eledon einen vollwertigen Ersatz für flüssige Buttermilch darstellt. Ähnliche Resultate erzielten Worringer, Putzig, Studer und Giertymühlen (16). Ein Gewichtsanstieg bei der "Aufzucht von Kleinkindern" mit Frauenmilch - Eledonnahrung wurde durch Zusatz von "Pelargon", einem weiteren Trockenmilchpräparat, noch gesteigert.

Mit diesem letztgenannten Präparat allein als Nahrung für Säuglinge beschäftigten sich Untersuchungen von Starsetzki (50).

"Pelargon" ist ein Sauermilchpräparat, dessen günstige ernährungs-physiologische Wirkung darauf basiert, daß der Eiweißkörper durch Säuerung einer besseren Aufschließung durch die Verdauungsfermente zugänglich gemacht wird. Da die gelieferte Energiemenge (750 Kal. auf 1 Liter Pelargonmilch) relativ hoch ist, genügen zur Ernährung schon geringe Mengen, die einer Magenüberfüllung mit anschließendem Erbrechen vorbeugen. Nach Starsetzki (50) zeichnete sich "Pelargon" besonders durch rasche Gewichtszunahmen bei Kindern aus, auch wenn leichte, mittelschwere enterale und parenterale Ernährungs- und Gesundheitsstörungen vorlagen, die durch dieses Präparat ebenfalls günstig im Sinne einer Heilung beeinflusst wurden. Günstig war auch die Wirkung von "Pelargon" als Zusatz zu Frauenmilch in den ersten Lebenswochen.

"Pelargon" lag auch in bezug auf Gewichtszunahmen von Kindern an der Spitze bei vergleichenden Untersuchungen mit weiteren Präparaten wie "Alete-Frühnahrung" und "Humana-Dauernahrung" (Kirschsieper und Mehl (26)

obwohl Humana-Dauernahrung in bezug auf die Gerinnungsverhältnisse weit -
gehend der Frauenmilch gleich.

Aber auch in der Veterinärmedizin findet die Verwendung von Trockenmilch-
erzeugnissen weitgehende Verwendung. In diesem Zusammenhang sei das Präparat
"San-Mi" erwähnt, das jedem praktischen Tierarzt als wertvolles Aufzucht-
mittel bei der Ferkelsucht bekannt sein dürfte.

Moegle (32) beschäftigte sich mit der künstlichen Aufzucht von Welpen mit
Hilfe von Kuhmilch und sieht die bisherigen Mißerfolge auf diesem Gebiet in
dem Mangel der Kuhmilch an Albuminen und Globulinen begründet. Unter diesen
Gesichtspunkten, wobei auch an einen Ersatz des fehlenden Kolostrums zu den-
ken ist, stellte der Autor eine Welpennahrung zusammen, die auf der Grundlage
des Boviserin (Rinderserum) in Verbindung mit Kuhmilchtrockenpulvern aufge-
baut wurde, und hatte mit dieser Kombination sehr günstige Erfolge zu verzeich-
nen. Moegle empfiehlt, je nach dem Alter der Jungtiere, eine verschiedene Zu-
sammensetzung der Welpennahrung zu verwenden, wie folgende Übersicht zeigt:

	<u>1.-6. Tag</u>	<u>7.-14. Tag</u>	<u>15.-30. Tag</u>
"Boviserin"	60 %	50-30 %	25-20 %
"Nest"	20 %	10 %	10-15 %
"Pelargon"	-	10 %	10-15 %
Dextrose	5 %	-	-
Wasser	15 %	30-50 %	45-60 %

Die Anwendung all dieser Präparate war aber erst nach Erfindung geeigneter
Trockenverfahren möglich, die auch eine volkswirtschaftlich günstige Preis-
gestaltung ermöglichten.

Im Laufe der Zeit sind für die Trocknung flüssiger Stoffe die verschiedenartigsten Verfahren entwickelt worden. Das älteste von ihnen ist die Walzentrocknung. Hierbei wird zunächst zwecks schnellerer Trocknung die Milch entweder vorgewärmt (—wie bei den älteren Walzenverfahren nach Just-Hatmaker und Gabler-Salite (22)—) oder im Vakuum bei 40 bis 50°C (Heiss 20) verkondensiert und dann über, durch Dampf oder Wasser beheizte rotierende Walzen gebracht, die eine Temperatur von 90°C haben (Becker— wie es bei neueren Verfahren von Büttner und Schröder der Fall ist. Die flüssige Milch trocknet dabei auf der Walze als dünnes Häutchen an, welch laufend von der Unterlage abgeschabt wird. Diese Art der Trocknung ergibt eine schuppenartige Masse, die schon makroskopisch, noch besser aber unter dem Mikroskop, von dem bei der Zerstäubungstrocknung anfallenden Pulver unterschieden werden kann. Dieses modernere Zerstäubungstrockenverfahren arbeitet mit wesentlich geringeren Temperaturen als das oben genannte Walzenverfahren. In einen Trockenturm wird mittels verschieden gestalteter Düsen Milch in feinsten Verteilung ausgeblasen und nach dem Gegenstromprinzip durch heisse, filtrierte Luft von 100 bis 200°C getrocknet. Die in Kugeln vorliegenden Milchtröpfchen erstarren bei diesem Vorgang zu festen Kügelchen. Trotz der höheren Lufttemperatur innerhalb des Trockenturms übersteigen die Temperaturen des Trockengutes durch die dauernde Verdunstung 60°C nicht. Am bekanntesten sind —neben dem älteren Verfahren nach Truford— die heute meist angewandten Sprühverfahren nach Krause, Rogers und Gray-Jensen. Schonung des Trockengutes und die große Mengenleistung lassen das Zerstäubungsverfahren für die Milchtrocknung besonders geeignet erscheinen (Edelling

In England und Amerika wird in neuester Zeit ein weiteres Verfahren, die Gefriertrocknung (43), angewendet. Die hierbei gewonnene, getrocknete Frischmilch ergibt nach ihrer Auflösung eine Milch, die sich in nichts von der normalen Frischmilch unterscheidet; selbst das Aufrahmen tritt wie bei Frischmilch ein. Bei diesem Gefrierverfahren wird die Milch zunächst gefroren und darauf der Wirkung eines Vakuums von 0,01 bis 0,05 mm Hg ausgesetzt. Der dabei entstehende Wasserdampf wird in eine Vorlage geleitet, die mit Trockeneis und einem Lösungsmittel beschickt ist, das als "Methyl-Cellosolve" bezeichnet wird. Bei dem anschließenden Absorptionsverfahren wird unter einem Druck von 0,3 bis 0,6 mm Hg der Wasserdampf durch besonders präpariertes Calciumsulfat ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$) gebunden. Dieses Verfahren besticht durch seine Billigkeit und die Möglichkeit der Wiederverwendung des Absorptionsmittels, welches durch Hitzeeinwirkung wieder regeneriert werden kann und einen Entzug des Wassers bis zu 99,95 % erlaubt.

Zum Schluß sei noch darauf hingewiesen, daß Findlay, Smith und Lea (14) durch Zugabe von Antioxydantien zu Trockenmilchpulvern, die nach dem Sprühverfahren gewonnen waren, eine längere Verwendungsmöglichkeit der Trockenmilchpräparate erreichten. In dieser Hinsicht stellten sie Versuche mit Ascorbinsäure und Aethylgallat an und erreichten bei Zusatz von 0,07 % Aethylgallat eine 2,5 bis 3-fache Haltbarkeit des Milchpulvers, ohne daß die Milch dadurch einen fremden Geschmack annahm.

Bakteriologische Betrachtungen

Roemmele und Westphal (45) machten vor einiger Zeit darauf aufmerksam, daß die Kindertrockenmilchpulver gesetzlich keiner bakteriologisch-hygienischen Überwachung unterliegen, da diese Pulver nicht als Lebensmittel, sondern pharmazeutische Präparate im Handel sind. Für die Trockenmilch ist lediglich der Fett- und Wassergehalt in der I. Ausführungsverordnung zum Milchgesetz im § 2 (11) e und f festgesetzt. Diese Vorschriften beschränken sich also auf eine rein chemische Untersuchung und betreffen zudem nicht die Kindertrockenmilchpulver. Bereits 1952 hatten Mohr und Koenen (33) ebenfalls auf das Fehlen gesetzlicher Bestimmungen zur Überprüfung der Qualität von Milchpulvern in Deutschland hingewiesen. Nach diesen Autoren bestehen in Deutschland keine gesetzlichen Grundlagen für eine bakteriologische Untersuchung von Milchpulvern insbesondere auch auf das Vorkommen von pathogenen Keimen. Die Beurteilung der Milchpulver geschieht in Deutschland im Allgemeinen nach den Bestimmungen der DLG nach Punktzahlen, die zwischen 20 (für Spitzenerzeugnisse) und 14 (für gerade noch befriedigende Produkte) liegen. Diese Zahlen werden aus folgenden Werten errechnet: Aussehen (Farbe, Geruch, Geschmack, Keimzahl, Coligehalt und Anaerobenprobe. Nach dem Molkereilexikon sollen bei der Beurteilung die Trockenmilcherzeugnisse folgenden Anforderungen genügen: Coligehalt in 0,01 g negativ, höchstens in 0,1 g positiv. Bei der Weinzirolprobe müssen von 4 Parallelbestimmungen 3 Proben negativ sein. Als Grundbedingung für die Beurteilung wird fernerhin die Abwesenheit folgender pathogener Keime gefordert:

- " 1. TPE - Gruppe
2. Tuberkelbakterien
3. Diphtheriebakterien
4. Pathogene Streptokokken
5. Gramnegative Eitererreger
6. Pathogene Schimmelpilze und Fungi imperfecti".

versuche von Mohr und Koenen (33) ergaben bei niedrigem Keimgehalt eines Milchpulvers oft weniger gute Ergebnisse bei der Weinzirprobe, da die Pasteurisierung nicht die Sporen abzutöten vermag. Schönberg (49) weist auf die schädliche Wirkung der Sporenbildner hin, die durch die Bildung von biogenen Aminen die Ursache des Brechdurchfalles der Säuglinge sein können.

nach Roemmele und Westphal (45) sollten in Zukunft eingehende Untersuchungen der Trockenmilchpulver vorgenommen werden, die sich auf folgende Punkte erstrecken hätten:

1. Grobsinnliche Prüfung
2. Reaktionen
 - a) pH-Wert
 - b) SH-Wert
 - c) Reduktase
 - d) Erhitzung
 - e) Fettbestimmung
3. Bakterioskopische Untersuchung
 - a) Sediment
 - b) direkter Ausstrich
 - c) Sedimentausstrich unter Berücksichtigung von Menge und Aussehen der Bakterien und der Färbungen nach Gram, Giemsa und Ziehl-Neelsen
4. Bakteriologische Untersuchung
 - a) aerob
 - b) anaerob (Weinzirl)
5. Colititer
6. Keimzahl
7. Serologische Untersuchung (Brucellose)
8. Tierversuch "

In eigenen Untersuchungen von Kindertrockenmilch auf Coligehalt, der hier besonders interessiert, konnten Roemmele und Westphal (45) nur in 2 von 10 mehrfach untersuchten Trockenmilchpulvern coliforme Keime nachweisen. In keinem Fall ergab die anschließende Differenzierung das Vorliegen von *Escherichia coli*. Sämtliche coliformen Keime wurden als *Escherichia intermedium* und *Aerobacter aerogenes* differenziert. Für die Beurteilung der Trockenmilch empfiehlt Roemmele einen Colititer, der mit 1,0 ml nach Vorschrift aufgelöster Milch in TTC-Bouillon negativ ist.

Die Möglichkeiten, daß Coli-Bakterien in die Milch gelangen, sind sehr zahlreich. Schon im Euter selbst kann die Infektion der Milch durch dort vorliegende krankhafte Prozesse beginnen. Meist wird jedoch die Milch mit Colibakterien erst nach dem Melken infiziert, sei es durch die Hand des Melkers oder durch Staub, Kotteilchen, Futterbestandteile, verunreinigte Melkgefäße und Milchkannen. Zur Gewinnung einer coli- und keimarmen Qualitätsmilch muß die Kontrolle daher bereits im Stall einsetzen.

Die Trockenmilch herstellenden Betriebe müssen besonders bestrebt sein, eine möglichst keimarme Milch zu verarbeiten. Vom Produzenten bis zur Fabrik werden daher von ihnen selbst schon eine Reihe von Maßnahmen eingeleitet, die auf die Gewinnung keimarmer Milch abzielen und einen schnellen Transport der gekühlten Milch gewährleisten (53).

Aber auch bei der Verarbeitung der Milch ist noch stets mit ihrer Verunreinigung durch den Menschen selbst zu rechnen. Die Verbreitung von *Escherichia coli* in der menschlichen Umgebung untersuchte Hiller (19), nachdem bereits Heymann (18) in Versuchen mit gezüchteten *Prodigiousus*-Kulturen zu der Feststellung gekommen war, daß "sich häufig flugfähige, lebende Bakterien ent-

haltende Kotteilchen von unserer Haut und Kleidung ablösen und durch Öffnungen der Kleidung oder beim Entkleiden als feiner Staub weithin verbreiten lassen".

Rubner (47) sieht die Hauptquelle der Verschmutzung unserer Kleider im Kot, der durch Eintrocknen und Abschliffen bis in die Strümpfe gelangt. Die Kotverschmutzung bildet nach Rubner trotz täglicher Waschung den Hauptgrund der Unreinlichkeit der Unterkleider und ist so auch für die Frage nach den Ursachen für Infektionen von Bedeutung.

Hiller (19) fand bei seinen Versuchen *Escherichia coli* in Hosen, Unterhosen, Socken, Strümpfen und Nylonstrümpfen von Untersuchungspersonen ebenso wie in der Raumluft der Aborte und Krankenzimmer. Besonders reichlich waren die Colibakterien in der Luft nach dem Aufschütteln von Oberbetten und Bettlaken schwerkranker Kinder zu finden. Während die Colibakterien im Anschluß an die Defäkation in der rima ani reichlich feststellbar waren, wurden sie mehrere Stunden nach der Defäkation dort nicht mehr gefunden. Durch Eintrocknen und Abschliffen waren sie in die Umgebung verschleppt worden.

Zusammenfassend kann man die Untersuchungen von Hiller mit dem Satz kommentieren, den Naumann (38) auf Grund eigener Untersuchungen ausgesprochen hat: "Colikeime sind so gut wie überall dort auffindbar, wohin die menschliche Hand gelangt".

Die Milch besteht demnach, von ihrer Gewinnung bis zum Verbrauch, ausreichend Gelegenheit mit Colibakterien infiziert zu werden. Saubere Gewinnung in geeigneten Behältern und schneller Transport sind für die Verarbeitung grundlegende Forderungen. Die eingeschaltete Behandlung soll dem Verbraucher eine hygienische, von pathogenen Erregern freie Milch gewährleisten. Die in letzter Zeit bekannt gewordenen modernen Verfahren, wie ultraviolette Bestrahlung,

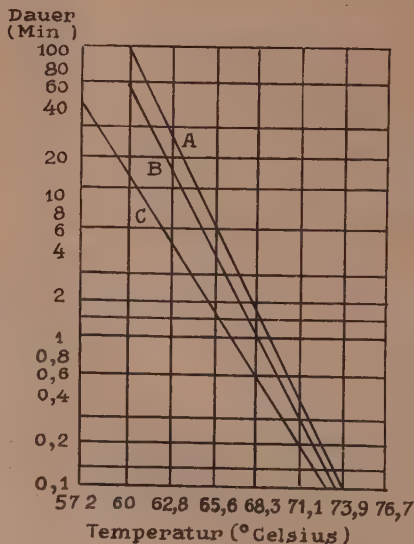
elektromagnetische Schwingungen und Ultraschallbehandlung, sind zwar wissenschaftlich von unbestreitbarem Interesse, konnten sich jedoch nicht, besonders wegen ihres hohen Preises, in der Industrie durchsetzen. Die Milch wird daher auch heute noch einer Hitzebehandlung unterzogen, eine Vernichtung nicht nur aller pathogenen Keime, sondern auch gleichzeitig eines großen Teils der Saprophyten bezweckt, denn auch die Saprophyten bewirken bei konservierter Milch eine mangelhafte Haltbarkeit. Die Zerstörung dieser unerwünschten Keime kann sich bei verschiedenen Temperaturen vollziehen. Die Temperatur und die Zeitdauer ihrer Einwirkung sind dabei voneinander abhängig, wie die folgende graphische Darstellung zeigt:

Graphische Darstellung von Dahlberg (8) über die Abhängigkeit von Hitzegrad und Einwirkungsdauer.

Gerade A: Temperaturen in Abhängigkeit von ihrer Einwirkungsdauer, die in der Milch das Schwinden der Sahneline bewirken (Ligne de crème).

Gerade B: Die verschiedenen Pasteurisierungstemperaturen.

Gerade C: Temperaturen, die die Zerstörung des Tbc-Bakteriums garantieren.



Bei der Herstellung von Milchkonserven wird heute vor allem die Kurzzeiterhitzung angewendet (HTST - high temperature short time). Die Milch wird dabei durch Röhren in Zylinder geleitet, die durch kochendes Wasser erhitzt sind. Ein Thermometer kontrolliert die für die Pasteurisierung notwendige Temperatur. Ein zweites Thermometer schreibt die laufenden Temperaturen automatisch nieder. Die auf diese Weise gewonnene pasteurisierte Milch wird dann dem Trocknungsprozess zugeführt. Zwischen den verschiedenen Arbeitsgängen sind bakteriologische Untersuchungen eingeschaltet, die sich besonders mit dem Nachweis von Colibakterien beschäftigen, die bekanntlich als Indikator für eine Verunreinigung mit pathogenen Keimen dienen.

Da die Industrie längst erkannt hat, daß der Mensch eine Hauptursache für bakterielle Verunreinigung ist, wird besonderes Augenmerk auf die allgemeine Hygiene und eine gründliche Desinfektion der Arbeitsräume gelegt. Die Nestlé-Ferke erzeugen so eine Trockenmilch, die in sterilisierte Behälter abgefüllt wird, und deren Keimgehalt mit höchstens 1000 Keimen pro Gramm angegeben wird, während aus Trockenmilch hergestellte Trinkmilch frei von *Escherichia coli* sein soll (53).

Für die Untersuchung von Lebensmitteln auf pathogene Keime gilt, wie bereits erwähnt, *Escherichia coli* als Indikator. Dabei wird vorausgesetzt, daß eine genaue Differenzierung der gefundenen coliformen Bakterien vorgenommen wird. *Escherichia coli* und *Aerobacter aerogenes* sind sowohl nach ihrem morphologischen Verhalten auf der Agarplatte, wie auch im mikroskopischen Bild nicht mit Sicherheit voneinander zu unterscheiden. Daher sind im Laufe der Zeit eine ganze Reihe von Untersuchungsmethoden zu ihrer Differenzierung entwickelt worden. Nach der international anerkannten Einteilung von Bergey's Manual (5) gelten folgende Vorschriften:

Familie der Enterobacteriaceae

Tribus I Eschericheae

Laktosespaltung unter Säure- und Gasbildung. Einige Übergangsformen produzieren nur langsam Gas aus Laktose.

Die Tribus Eschericheae teilt sich nach Bergey wieder in folgende

Genera:

Genus I Escherichia

Acethylmethylcarbinolbildung negativ, Methylrottest positiv,
Citratspaltung negativ

Genus II Aerobacter

Acethylmethylcarbinolbildung positiv, Methylrottest negativ,
Citratspaltung positiv.

Genus III Klebsiella

Kapselbildung, Methylrottest und Acethylmethylcarbinolbildung unregelmäßig, Citratspaltung + oder - , fakultative Parasiten beim Mensch.

Nach vorstehender Übersicht unterscheidet sich das Genus Klebsiella durch Kapselbildung morphologisch von den Genera Escherichia und Aerobacter, die dieses Verhalten nicht zeigen. Die Unterscheidungsmerkmale von Escherichia und Aerobacter sind in biochemischer Hinsicht durch ihr inverses Verhalten gegenüber der Methylrotprobe und der Acethylmethylcarbinolbildung gekennzeichnet. Wie Braune (7) ausführt, ist es nicht möglich, Escherichia coli von Aerobacter auf der Endo-Platte oder einer ähnlichen Vergärungsplatte zu unterscheiden, während nämlich die meisten Bakterien des Tribus Eschericheae auf der Endo-Platte rote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz bilden, zeigen eine Reihe von pathogenen Stämmen dieses Verhalten nicht, da sie Laktose nicht zu spalten vermögen.

Diese laktose-negativen Colistämme wurden früher meist als Paracoli diagnostiziert und galten lange Zeit als besonders toxisch (Rolle, Baumgärtel (46)), eine Auffassung, die auf der Erkenntnis beruhte, daß die bisher bekannten Darmkeime, wie Salmonellen und Shigellen, Laktose nicht zu spalten vermögen (Fey (12)). Nach Edwards (10) Ausführungen gibt es zwar unter den nichtlaktosevergärenden Colistämmen gewisse pathogene Arten, gegen eine Verallgemeinerung dieser Ansicht setzt sich jedoch Kauffmann (24) zur Wehr. Letzterer betont im Gegenteil die bedingte Pathogenität von *Escherichia coli*, die darauf zurückzuführen ist, daß für das Zustandekommen einer Infektion nicht allein die Exposition des Organismus gegenüber dem Erreger genügt, sondern für eine klinische Erkrankung stets eine Disposition des Organismus mit entscheidend ist (Fey (12)). Kauffmann bestätigt damit die Untersuchungsergebnisse, die Jensen (21) bereits 1892 gemacht hatte. Dieser Autor hatte aus dem Darm und den Organen von an septischer Coliinfektion verendeten Kälbern Stämme gezüchtet und auf ihr biochemisches Verhalten geprüft, fand jedoch keine Unterschiede zwischen den von ihm isolierten und bekannten Bakterien (Fey (12)). Kauffmann (23) lehnt die Bezeichnung "Paracoli" für nicht laktosespaltende coliforme Stämme überhaupt ab, sofern sie sich sonst wie typische *Escherichia*-Stämme verhalten. Er definiert als *Escherichia coli* eine große Gruppe serologisch verwandter, gramnegativer, nicht Sporenbildender Stäbchen, die mit gewissen Ausnahmen durch Begeißelung beweglich sind. Sie zeigen eine positive Indol- und eine negative Voges - Proskauer - Reaktion, aber eine positive Methylrotreaktion, bauen Harnstoff nicht ab und wachsen nicht auf ammoniumzittrathaltigen Nährböden. Gelatine wird nicht verflüssigt. Nach internationaler Übereinkunft wird heute das von

Parr (42) so benannte IMViC - System für die Diagnose von *Escherichia coli* hinzugezogen. Nach ihm gelten folgende Eigenschaften als typisch für *Escherichia coli* und *Aerobacter aerogenes*:

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aerobacter aerogenes</i>
Indol	+ + -	- - -
Methylrot	+ - +	- - -
Vog.-Prosk.	- - -	+ + -
Citratsp.	- - -	+ - +

Michiyuki Murae (37), Japan, hat vor einiger Zeit ein neues Verfahren angegeben, welches im Stande ist, die Gattungen *Aerobacter* und *Escherichia* zu differenzieren. Es besteht aus einem festen Kulturmedium und beruht auf dem gleichen Prinzip wie die Methylrot-Reaktion. Da dieses neue Verfahren nicht innerhalb der Gattung *Escherichia* trennt, ist es nach der Meinung von Braune (7) auch nicht in der Lage das IMViC-System zu verdrängen.

In der jüngeren Zeit bedeutete für die Erforschung des Coliproblems die Entdeckung der Antigenstruktur durch Kauffmann (23) und die Entdeckung des Hüllenantigens durch Knippschildt (28) einen wesentlichen Fortschritt in der Differenzierung der Colistämme. Im Vergleich zu den biochemischen Leistungen bietet die Antigenformel einen bedeutend höheren Sicherheitsfaktor.

Von allen bekannten Antigenstrukturen wurden die Colitypen O 111:B4 und O 55:B5 bei endemischen Brechdurchfällen der Kleinkinder in der ganzen Welt am häufigsten isoliert. Während über die Darmpathogenität der Dyspepsie-Coli (DC) für Säuglinge Einmütigkeit herrscht, ist die Pathogenität der DC-Stämme für die Haustiere noch nicht restlos geklärt (Kraus (29)).

Adam (2) hält den Typ 026:B 6 für den Kälberruhrerreger und den Typ 86:B7 für einen Erreger der Mastitis. Fey (13) isolierte den Typ 55:B5 bei einer Mastitis und Finkelstein (15) gelang es mit Coliarten, die er aus dem Stuhl gesunder Kinder gezüchtet hatte, bei Kälbern eine schwere hämorrhagische Colitis zu erzeugen.

Oldschmidt (17), Adam (3) und Erkens (11) gelang es nicht, Dyspepsieerregern aus der Milch nachzuweisen. Da das Kuheuter aber bekanntlich der Sitz vieler Krankheitserreger der Menschen und Tiere ist, hält es Kraus (29) für ratsam weitere eingehende Untersuchungen in dieser Hinsicht anzustellen. Kraus (29) untersuchte 342 Milchproben und isolierte aus nur 108 Proben = 31,6 % Colikeime, die er alle auf die beiden, am meisten verbreiteten Typen 0111:B4 und 055:B5 untersuchte. In keinem Falle ergab die Agglutination mit Sicherheit das Vorliegen eines DC-Stammes. Kraus führt dieses Ergebnis darauf zurück, daß im Einzugsgebiet, aus dem das Untersuchungsmaterial stammte, zum Zeitpunkt der Untersuchung DC-Infektionen nicht vorlagen. Seiner Meinung nach jedoch spricht dieser Befund nicht für ein dauerndes Freisein der Milch von Dyspepsie-Coli. Klein (27) ging von der Feststellung aus, daß hauptsächlich abgestillte, mit Kuhmilch ernährte Kinder an Enteritis erkrankten. Er untersuchte 135 Rohmilchproben und 259 pasteurisierte Milchproben und isolierte 394 Kolonien. Nur 71 von diesen Kolonien erwiesen sich als Escherichia coli. Die serologische Untersuchung auf die säuglingspathogenen Typen 0111:B4, 026:B6 und 055:B5 ergab in keinem Falle ein positives Resultat.

Klein kommt ausserdem im Laufe seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Wachstumsform auf Agar kein Diagnostikum für Escherichia coli darstellt. Ebenfalls lehnt er die Beweglichkeitsprüfung, die von manchen Forschern, z.B.

- Todoroff (51), als besonders geeignet bezeichnet wird, als ungeeignet für eine spezifische Coli-Diagnose ab. Die Fähigkeit, verschiedene Zucker anzugreifen, genügt nach Klein ebenfalls nicht. Im IMViC-System sieht Klein eine Möglichkeit die bestehende Unsicherheit auf dem Gebiet der Differenzierung coliformer Keime zu beenden. Er empfiehlt deshalb dieses System in weiteren Versuchen auf seine Gültigkeit zu untersuchen. Den Ausdruck Colititer möchte Klein in Zukunft als Hinweis für die Verunreinigung mit coliformen Keimen angesehen wissen, da er bei seinen Versuchen feststellen mußte, daß der Anteil von *Escherichia coli* am Colititer prozentual gering ist.

Adam (3) macht darauf aufmerksam, daß beim Säugling schon eine infectio minima genügt, um eine Erkrankung auszulösen, während mit zunehmendem Alter größere Dosen von pathogenen Coli erforderlich wurden. Die Widerstandskraft der Dyspepsie-Coli ist nach Adam (3) außerordentlich hoch. Sie vertragen eine Austrocknung bis zu 8 Monaten und sind erst beim Erhitzen auf 90°C nach 4 Minuten abgetötet. Diese Erkenntnisse kommen der heutigen Wissenschaft zugute. Die früher gefürchteten Hausendemien, besonders in Kinderkliniken, können heute durch regelmäßige Desinfektion, diätetische und medikamentöse Behandlung und durch Aufklärung des Pflegepersonals auf ein Minimum beschränkt werden.

Eigene Untersuchungen

I. Untersuchungsmaterial

a) Zur Untersuchung gelangten die folgenden 4 verschiedenen Trockenmilchpräparate, die von der Kinderklinik der Justus Liebig-Universität zur Verfügung gestellt waren, und die dort zur Herstellung von Kindernahrung dienten:

1. Pelargon ist eine gebrauchsfertige Säuglingsmilch in Pulverform mit Stärke- und Zuckerzusatz. Nach den Angaben auf dem Etikett handelt es sich um "Zweidrittermilch angesäuert".

100 ccm (107 g) trinkfertiger Pelargonmilch haben die folgende Zusammensetzung:

Fett	2,5 g
Eiweiß	2,4 g
lösliche Kohlenhydrate	8,9 g
Stärke	2,0 g
Mineralstoffe	0,6 g
freie Milchsäure	0,3 g
Wasser	90,7 g

Dieses Präparat wird, ebenso wie die noch zu beschreibenden Trockenmilchpräparate 2 und 4 von den Nestle-Werken hergestellt.

2. Eledon ist Buttermilch in Pulverform ohne Kohlenhydratzusatz, deren Durchschnittsanalyse folgende Zusammensetzung ergibt:

Fett	14,0 %
Eiweiß	30,8 %
Milchzucker	40,0 %
Salze	6,5 %
Milchsäure	4,7 %
Wasser	4,0 %

3. Humana hat nach den Prospekt-Angaben folgende Zusammensetzung :

" Fett	3,3 %
Milchzucker	7,2 %
Eiweiß	1,5 %
Polysaccharide	0,5 %
Salze	0,4 %
Vitamin C	42 mg/Kg
Vitamin D ₂	7148 /Kg
= 10 mg DM ₂ je 100 Ltr. trinkfertiger Nahrung	
Ferro-Eisen	6 mg/Kg
Süßstoff (Saccharin)	0,17 g/Kg "

Humana ist ein Erzeugnis der Humana-Werke.

4. Arobon ist in Pulverform im Handel und wird bei Durchfall bei Säuglingen und Kleinkindern angewendet. "Arobon wird aus dem Fruchtfleisch des Johannisbrotes gewonnen und gestattet eine erfolgreiche Behandlung akuter und chronischer Ernährungsstörungen bei Säuglingen, Kindern und Erwachsenen."

b) Verwendete Nährböden

Zur Untersuchung der genannten Trockenmilchpräparate wurden folgende festen Nährböden verwendet:

1. Der Bromkresolpurpur-Laktose-Agar-Nährboden wurde im Institut folgendemaßen hergestellt:

Zu einem Liter 2 %igen festen Agar-Nährbodens vom pH-Wert 7,4 wurden nach Verflüssigung im Dampftopf 20 ccm Bromkresolpurpurlösung der unten beschriebenen Herstellung und 20 g Milchzucker zugesetzt. Nach einer 30 Minuten Sterilisation im Dampftopf hatte dieser Nährboden eine rötlich-violette Farbe.

Herstellung der Indikator-Lösung:

1 g Bromkresolpurpur in Substanz wird in 20 ccm n/10 Natronlauge gelöst und mit Aq. dest. auf 200 ccm aufgefüllt. Diese Indikatorlösung ist haltbar.

2. Der Trypaflavin-Laktose-Bromthymolblau-Agar nach Klimmer, Haupt u. Borchers dient dem Nachweis von E.Coli und Aerobacter-Aerogenes und hat folgende Zusammensetzung:

In 1000 ccm Fleischwasser sind 10 g Pepton, 5 g Kochsalz, 25 g Agar, 10 g Laktose und 100 ccm einer 1,5 %igen alkoholischen Bromthymollösung (pH 6,8 (grasgrün)) enthalten. Vor dem Ausgießen in Petrischalen werden 100 ccm Nährboden 0,5 ccm einer 1 %igen wässrigen Trypaflavinlösung zugegeben.

Agarnährböden mit 0,1 % Glukosezusatz.

2 % Agar-Agar enthaltenden Nährboden wurden nach seiner Verflüssigung vor der Sterilisation im Dampftopf 100 mg Glukose pro 100 ccm Nährboden zugesetzt.

Platten sollen nicht zu dünn ausgegossen werden. Eine Trocknung zur Verstopfung des Kondenswassers soll vor der Beimpfung soweit durchgeführt werden, daß ein Zusammenfließen der Kolonien vermieden wird.

Schrägararröhrchen.

Grenzgläser (160 x 16 mm) werden mit ca. 4 ccm Agar-Nährboden der üblichen Einstellung in schräger Lage so erkalten lassen, daß eine ca. 8-10 cm lange Schrägararschicht entsteht.

Termin wurden für die durchzuführenden Untersuchungen folgende flüssige Nährböden benötigt:

Bouillonröhrchen zur Anreicherung der Proben nachstehender Zusammen-

setzung:

Fleischwasser	1000,0 g
Pepton	10,0 g
Kochsalz	5,0 g

Im Dampftopf 1/2 Stunde gekocht. Dann erfolgt das Einstellen des Bouillon-Nährbodens auf pH 7,5. Nach erneuter Sterilisation während 15 min. werden jeweils 5 ccm in Reagenzröhrchen abgefüllt und im Dampftopf je eine Stunde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert.

2. Die Nährböden für die Vergärungsreihe ("Bunte Reihe")

wurden aus Pepton-Bouillon unter Zusatz nachstehender Reagentien und Bromthymolblau als Indikator hergestellt:

Glukose
Saccharose
Laktose
Mannit
Adonit
Salizin
Citrat

Außerdem wurden Trypsin-Bouillon zum Indolnachweis und Glukose-Bouillon ohne Indikator für die Methylrot- und Voges-Proskauer-Probe verwendet.

II. Untersuchungsgang.

Die zu untersuchenden Trockenmilchproben wurden unter sterilen Kautelen der Milchküche der Kinderklinik aus verschlossenen, aber im Gebrauch befindlichen Behältern mittels sterilisierten Reagenzröhrchen, die die Nummer der Versuchs trugen, entnommen. Gleichzeitig wurden die Versuchsnummern mit Angabe über den Entnahmetag und Versuchsmaterial (Pelargon, Eledon usw.) in ein Protokollheft eingetragen.

Das in den Reagenzröhrchen befindliche Material wurde zwecks Ansicherung in Bouillonröhrchen überführt, die für 48 Stunden zur Bebrütung bei 37°C in den Brutschrank gestellt wurden. Nach dieser Zeit wurden aus den Röhrchen Überimpfungen auf Bromkresolpurpur-Laktose-Agarplatten und Trypaflavin-Laktose-Agarplatten mittels einer ca. 0,02 ccm fassenden und geglühten Platinöse vorgenommen, indem jeweils 15 Ösen Material auf einem Nährboden ausgestrichen wurden. Die beimpften festen Nährböden wurden im Brutschrank 24 Std. lang bei 37°C bebrütet und weitere 48 Std. bei Zimmertempe-

tur aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden die Nährböden auf insbesondere Coli-Wachstum überprüft. Das Ergebnis der Untersuchung wurde tabellarisch im Protokollbuch festgehalten. In allen Fällen von Kolonienwachstum erfolgte eine mikroskopische Untersuchung von Ausstrichpräparaten nach Gramfärbung. (Die für die Färbung benötigten Reagentien stellte das Institut zur Verfügung.)

Wurden coliforme, gramnegative Stäbchenbakterien nachgewiesen, dann erfolgte die Differenzierung.

Aus allen verdächtigen Kolonien wurde zunächst Material auf 5 Bromkresolpurpur-Laktose-Agarplatten übertragen und ausgestrichen. Die Nährböden wurden 24 Std. lang im Brutschrank bei 37°C bebrütet. Dieses Verfahren lieferte einwandfreie Einzelkolonien, von denen je eine zur späteren Differenzierung auf Schrägagarröhrchen überimpft wurde. Nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C wurden die Röhrchen mit Paraffin verschlossen, nachdem in allen Fällen nochmals eine Reinheitsprüfung mikroskopisch (Gramfärbung) ausgeführt war.

Die Differenzierung erfolgte gleichzeitig nach Abschluss der Untersuchungen von 208 Trockenmilchproben und begann mit der Prüfung des biochemischen Verhaltens in der Vergärungsreihe, deren Nährboden mit den Reinkulturen aus den Schrägagarröhrchen beimpft wurden. Eine "Bunte Reihe" blieb zur Kontrolle unbeimpft. Nach 36-stündiger Aufbewahrung im Brutschrank bei 37°C erfolgte die Auswertung der Vergärungsreihen.

Gleichzeitig mit dem Ansetzen der biochemischen Prüfung wurden Subkulturen der Stämme auf neuen Schrägagarröhrchen zu weiteren Untersuchungen angelegt.

Die Nährböden zur Durchführung der Voges-Proskauer- und Methylrotreaktion blieben noch weitere 48 Stunden im Brutschrank bei 37°C und wurden dann mit den entsprechenden Reagentien beschickt. (Für die Voges-Proskauer-Reaktion gibt man zu 5 ccm bebrüteter Kultur 3,0 ccm einer 10 %igen KOH-Lösung, zur Feststellung der Methylrot-Reaktion kommen auf 5 ccm bebrütete Kultur 2 bis 3 Tropfen einer 0,04 %igen Methylrotlösung.) Das Ergebnis wurde nach weiteren 24 Stunden abgelesen.

Sprach das biochemische Verhalten für E.Coli, dann wurde eine serologische Prüfung angeschlossen. Diese Prüfung sollte die Feststellung ermöglichen, ob einer der gefundenen Colistämme den sog. "Dyspepsie-Coli" zuzuordnen ist. Zuvor wurden die Coli-Stämme auf Agarplatten mit 0,1 % Glukosezusatz überimpft, um die Antigenausbildung der Bakterien zu fördern. Die Platten kamen zur Bebrütung für 24 Stunden bei 37°C in den Brutschrank.

Die Ausführung der serologischen Untersuchung erfolgte mittels der Objektträger-Schnellagglutination mit probeagglutinierenden Seren folgender Zusammensetzung:

Serum 1: Die Coliseren der Stämme 025:L, 026:B6 und 086:B7 wurden jeweils in den Mengen von 0,1 ccm in 0,7 ccm einer 0,85 %igen NaCl-Lösung (mit 0,5% Phenolzusatz) pipettiert und gemischt.

Serum 2: Die Coliseren 055:B5 und 0111:B4 wurden jeweils in der Menge von 0,1 ccm in 0,8 ccm einer 0,85 %igen NaCl-Lösung (mit 0,5 % Phenol) überführt.

Das Serum 1 ergab mit Test-Kolistämmen 025:L, 026:B6 und 086:B7, das Serum 2 mit Teststämmen 055:B5 und 0111:B4 spontane Objektträgeragglutina-

tionen. Mit Serum 1 konnten keine Agglutinationen mit den Stämmen 055:B5 und 0111:B4, mit Serum 2 keine Agglutinationen mit den Stämmen 025:L, 026:B6 und 086:B7 erzielt werden. Die Ausgangsseren, die der Herstellung der Testseren für die Objektträger-Agglutination dienten, waren von den Behring-Werken Marburg geliefert worden.

III. Die Untersuchungsergebnisse sind der besseren Übersicht halber in den nachstehenden Tabellen niedergelegt.

Tabelle A

Ergebnis der kulturellen Untersuchung von Pelargon (1), Eledon
Bromkresolpurpur-Laktose-Agarplatten und Trypaflavin-Bromthymolb

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gr
1	5.2.57	1	schleim- und Ausläufer bilden- de Kolonien (-)	grampo Stäbch
2	5.2.57	2	nadelstichgr. Kolonien (+++)	Kokke
3	5.2.57	3	gezackte Kolonien (-)	gramp
4	5.2.57	4	nadelstichgr. Kolonien (++)	Kokke grampo
5	5.2.57	2	nadelstichgr. Kolonien (-)	Strept
6	6.2.57	4	2 mm ø große Kolonien (-)	grampo
7	6.2.57	4	nadelstichgr. Kol. und gezackte Kol. (++)	Kokke
8	6.2.57	3	nadelstichgr. und gezackte Kol. (++)	Kokke Stäbch
9	6.2.57	3	unregelmäßig große, gezackte Kolonien (-)	grampo
10	7.2.57	2	nadelstichgroße, transparente Kolonien (-)	grampo
11	7.2.57	1		
12	7.2.57	4	nadelstichgr. Kolonien transparent (-)	grampo
13	7.2.57	4	gezackte schleimbildende Kol. nadelstichgr. Kol. (++)	Kokke grampo

Zeichenerklärung:

- (-) = keine Säurebildung
- (+) = schwache Säurebildung
- (++) = Platte nur teilweise durch Säurebildung
- (+++)= Säurebildung über die ganze Platte
- = kein Kolonienwachstum

2), Arobon (3) und Humana (4) mittels
blau-Laktose-Agarplatten.

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
s. sporenbildende en	-	-	
	-	-	
s. Stäbchen	-	-	
s. Stäbchen	-	-	
kokken.	-	-	
s. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
und grampos. en	-	-	
sitive Stäbchen	-	-	
sitive Stäbchen	-	-	
-	-	-	
sitive Stäbchen	-	-	
s. Stäbchen	-	-	

g umgeschlagen

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	
14	8.2.57	1	nadelstichgr. Kol. nadelkopfgr. Kolonien (+++)	Kokke gramp
15	8.2.57	2	nadelstichgr. Kol. (+++) nadelkopfgr. Kol. transparent	Kokke gramm
16	8.2.57	3	nadelstichgr. transparente Kolonien (++)	gramp
17	8.2.57	3	nadelkopfgr. Kol. nadelstichgr. Kol. (+++)	Kokke gramm
18	11.2.57	2	unregelmäßig große gezackte Kolonien (-)	gramp Stäbce
19	11.2.57	1	nadelstichgr. nicht transpar. Kolonien (+++)	Kokke
20	11.2.57	4	unregelmäßig große, gezackte Kol., schleimbildend (-)	gramp
21	11.2.57	3	gezackte und nadelstichgr. Kol. (++)	Kokke gramp
22	12.2.57	2	nadelstichgr. nicht transpar. Kol. (+++)	Kokke
23	12.2.57	2	nadelstichgr. Kolonien nadelkopfgr. transp. Kol. (+++)	Kokke gramm
24	12.2.57	1	-	
25	12.2.57	4	nadelstichgr. Kol. u. gezackte schleimbild. Kol. (++)	Kokke Stäbce
26	12.2.57	4	runde 2 mm ϕ große Kol. gezackte Kolonien (++)	Kokke gramp
27	13.2.57	3	gezackte Kol. schleimbildend (-)	gramp Stäbce
28	13.2.57	2	gezackte Kol. schleimbildend (-)	gramp Stäbce
29	13.2.57	1	nadelkopfgr. Kol. transparent (+++)	gramm Stäbce
30	14.2.57	3	nadelstichgr. und gezackte Kol. (-)	gramp Stäbce

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
Stäbchen	-	-	
Stäbchen	nadelkopfgroße Kolonien (++)	gramnegat. Stäbchen	Stamm I
Stäbchen	-	-	
Stäbchen	nadelkopfg. Kolonien (+++)	gramnegat. Stäbchen	Stamm II
ative n	-	-	
	-	-	
Stäbchen	-	-	
Stäbchen	-	-	
	-	-	
Stäbchen	nadelkopfg. Kol. (+++)	gramnegat. Stäbchen	Stamm III
-	-	-	
grampos. (sporenbild.)	-	-	
Stäbchen	-	-	
ative	-	-	
ative	-	-	
ative	nadelkopfg. Kolonien	gramneg. Stäbchen	Stamm IV
ative	-	-	

Tabelle A
Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	
31	14.2.57	3	gezackte Kolonien schleimbildend (-)	grampos. Stäbchen
32	14.2.57	2	nadelstichgr. Kol. nicht transparent (+++)	Kokken
33	14.2.57	1	-	-
34	14.2.57	1	nadelstichgr. nicht transpar. Kol. (+++)	Kokken
35	15.2.57	2	gezackte Kolonien - schleimbildend (-)	grampos. Stäbchen
36	15.2.57	2	nadelstichgr. u. nadelkopf- große Kol. (+++)	grampos. Stäbchen
37	15.2.57	2	nadelstichgr. Kolonien (+++)	Kokken
38	15.2.57	2	gezackte Kolonien schleimbildend	grampos. Stäbchen
39	15.2.57	2	nadelstichgr. u. nadelkopf- große Kolonien (+++)	grampos. Kokken
40	18.2.57	2	nadelstichgr. Kol. (+++)	Kokken
41	18.2.57	2	gezackte Kol. u. einzelne nadelstichgr. Kol. (+)	Kokken grampos.
42	18.2.57	2	nadelkopfgr. Kol. (++)	grampos.
43	19.2.57	4	nadelstich- u. nadelkopfgr. Kolonien (+++)	Kokken grampos.
44	19.2.57	1	nadelstichgr. Kolonien transparent (-)	grampos.
45	19.2.57	3	gezackte Kolonien schleimbildend	grampos.
46	19.2.57	3	nadelstichgr. u. gezackte Kolonien (++)	Kokken grampos.
47	20.2.57	2	nadelstichgr. Kol. (+++)	Kokken
48	20.2.57	1	nadelstichgr. Kol. (+++)	Kokken
49	20.2.57	4	-	

Färbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gratfärbung	Bemerkungen
ve	-	-	
	-	-	
	-	-	
	-	-	
ve	-	-	
ve	-	-	
	-	-	
ve	-	-	
täbchen	-	-	
	-	-	
täbchen	-	-	
täbchen	-	-	
Stäbchen	-	-	
täbchen	-	-	
täbchen	-	-	
täbchen	-	-	
	-	-	
	-	-	
	-	-	

Tabelle A
Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	
50	20.2.57	4	nadelstich- u. nadelkopfggr. Kol. (+++)	Ko
51	20.2.57	4	nadelkopfggr. Kolonien schleimbildend (-)	gr
52	21.2.57	4	nadelstichgr. u. nadelkopfggr. Kolonien (+++)	Ko
53	21.2.57	4	nadelstichgr. u. gezackte Kolonien	Ko gr
54	21.2.57	1	nadelstichgr., nicht transparente Kol. (+++)	Ko
55	21.2.57	1	nadelstichgr. u. gezackte Kolonien (++)	gr Ko
56	21.2.57	2	gezackte Kol. schleimbildend (-)	gr
57	21.2.57	2	nadelkopfggr. u. gezackte Kolonien (-)	gr
58	21.2.57	4	nadelstichgr. u. nadelkopfggr. Kolonien (++)	Ko gr
59	22.2.57	3	nadelstichgr. nicht transpar. Kolonien (+++)	Ko gr
60	22.2.57	3	nadelstichgr. u. gezackte Kolonien (++)	Ko gr
61	22.2.57	2	nadelstichgr. u. gezackte schleimbildende Kol. (+)	Ko gr
62	22.2.57	1	nadelstichgr. u. nadelkopfggr. Kolonien (+++)	Ko
63	22.2.57	3	nadelstichgroße Kolonien (+)	Ko
64	25.2.57	2	nadelstichgr. Kol. (+++)	Ko
65	25.2.57	1	-	
66	25.2.57	4	nadelkopfggr. nicht transp. Kolonien (++)	Ko

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
cken	-	-	
ampos. Stäbchen	-	-	
cken	-	-	
cken ampos. Stäbchen	-	-	
cken	-	-	
ampos. Stäbchen cken	-	-	
ampos. Stäbchen	-	-	
ampos. Stäbchen	-	-	
cken ampos. Stäbchen	-	-	
cken ampos. Stäbchen	-	-	
cken u. ampos. Stäbchen	-	-	
cken ampos. Stäbchen	-	-	
cken	-	-	
cken	-	-	
cken	-	-	
-	-	-	
cken	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	
67	25.2.57	3	-	
68	26.2.57	2	-	
69	26.2.57	1	-	
70	26.2.57	4	-	
71	26.2.57	3	einzelne nadelstichgroße Kolonien (+)	Kokk
72	2.9.57	1	Rasenbildung Schleimbildung (-)	Kokk gran
73	2.9.57	2	nadelstichgr. transparente Kolonien (+++)	gran
74	2.9.57	3	Rasenbildung Schleimbildung (-)	Kokk gran
75	2.9.57	4	Rasenbildung Schleimbildung (-)	gran
76	2.9.57	1	starke Rasenbildung (++)	gran Stäb
77	2.9.57	2	nadelstichgr. u. nadelkopfg. transparente Kol. (+++)	gran Stäb
78	2.9.57	3	starke Rasenbildung (-)	gran
79	2.9.57	4	nadelkopfg. transparente Kolonien (+++)	gran Stäb
80	3.9.57	1	nadelstichgr. Kolonien Rasenbildung (-)	gran Spro
81	3.9.57	2	nadelstich- u. nadelkopfg. Kolonien	gran
82	3.9.57	3	Rasenbildung, nadelstichgr. Kolonien (++)	Kokk gran
83	3.9.57	4	Rasenbildung (+)	Kokk gran
84	3.9.57	1	Rasenbildung, nadelstich- u. nadelkopfg. Kol. (-)	Kokk Stäb

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bronthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
-	-	-	
-	-	-	
-	-	-	
-	-	-	
-	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
positive, schlanke Bakterien	-	-	
positive ovoide Bakterien	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
positive, ovoide Bakterien	-	-	
pos. Stäbchen Pilz	nadelstichgr. nicht transp. Kol. (-)	Sproßpilz	
pos. Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
neg., grampos. Bakterien	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	
85	3.9.57	2	nadelstichgr. nicht trans- parente Kol. (+++)	Ko gr
86	3.9.57	3	Rasenbildung (-)	gr
87	3.9.57	4	nadelkopfgr., gelbes Pigment bildende Kolonien (+++)	Ko
88	5.9.57	1	nadelstichgr. u. nadelkopf- große nicht transp. Kol. (+)	Sp Ko
89	5.9.57	2	-	
90	5.9.57	3	nadelstichgr. u. nadelkopfgr. Kolonien (++)	Ko sc
91	5.9.57	4	Rasenbildung (-)	gr
92	6.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	Ko sc
93	6.9.57	2	nadelstichgr. Kol. und 5 mm Ø Kol. (+++)	Ko St
94	6.9.57	3	nadelstichgr. Kolonien Rasenbildung (+++)	Sp gr
95	6.9.57	4	nadelstichgr. u. nadelkopfgr. nicht transp. Kol. (++)	Ko
96	6.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (+)	gr St
97	6.9.57	2	nadelstichgr. transpar. u. 5 mm Ø nicht transp. Kol. (++)	Ko St
98	6.9.57	3	Rasenbildung, nadelstichgr. transpar. Kol. (+++)	gr gr
99	6.9.57	4	Rasenbildung, nadelstichgroße Kolonien	Ko St
100	7.9.57	1	-	
101	7.9.57	2	Rasenbildung, nadelstichgr. u. 5 mm Ø Kol. (+++)	Ko

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
Kokken grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
Kokken	-	-	
großpilz Kokken	-	-	
-	-	-	
Kokken, grampos. lanke Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
Kokken, grampos. lanke Stäbchen	-	-	
Kokken, grampos. Stäbchen	-	-	
großpilz, Kokken gramneg. Stäbchen	nadelkopfgroße Kolonien	gramneg. Stäbchen	Stamm V
Kokken	-	-	
grampos. ovoide Stäbchen	-	-	
Kokken, grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen gramneg. Stäbchen	Rasenbildung, nadel- kopfg. Kol. (+++)	gramneg. Stäbchen	Stamm VI
Kokken, grampos. Stäbchen	-	-	
-	-	-	
Kokken	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()
102	7.9.57	3	Rasenbildung, nadelstichgr. Kolonien
103	7.9.57	4	Rasenbildung, nadelstichgr. u. 5 mm $\varnothing$ Kol. (+++)
104	10.9.57	1	Rasenbildung, nadelstichgr. u. 5 mm $\varnothing$ Kol. (++)
105	10.9.57	2	nadelstichgr. u. gezackte Kolonien
106	10.9.57	3	unregelmäßig, gezackte Kol. erhaben, schleimb. (-)
107	10.9.57	1	Rasenbildung, bis nadelkopf- große Kol. (+++)
108	10.9.57	1	bis nadelkopfigr. Kolonien rund nicht transparent (++)
109	10.9.57	1	nadelkopfigr. Kol. gezackte schleimbild. Kol. (-)
110	10.9.57	1	nadelstichgr. u. 5 mm $\varnothing$ große Kolonien (++)
111	10.9.57	1	Rasenbildung, starke Schleim- bildung, stichgr. Kol. (+)
112	10.9.57	1	nadelstichgr. Kol. Rasenbildung (-)
113	10.9.57	1	nadelstichgr. u. nadelkopfgroße Kol. (++)
114	10.9.57	2	Rasenbildung u. nadelstich- große Kol. (++)
115	10.9.57	2	nadelstichgr. Kol. (+)
116	10.9.57	2	nadelstichgr. Kol. (-)
117	10.9.57	2	-
118	10.9.57	2	nadelstichgr. Kolonien Rasenbildung (++)

Gramfärbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
Kokken	-	-	
Kokken, grampos. schlanke Stäbchen	-	-	
Kokken, grampos. schlanke Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
Sproßpilz grampos. Stäbchen	-	-	
Kokken, Sproßpilz grampos. Stäbchen	-	-	
grampos. Stäbchen	-	-	
Sproßpilz, gramp. Stäbchen	-	-	
Kokken	-	-	
Sproßpilz Kokken	-	-	
Sproßpilz grampos. Stäbchen	-	-	
-	-	-	
Kokken	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung (-)	Gr
119	10.9.57	2	Rasenbildung (-)	gr
120	10.9.57	2	nadelstichgr. Kol. Rasenbildung (++)	Kol
121	10.9.57	2	nadelstichgr. nicht transpar. Kol. (+++)	Kol
122	10.9.57	2	nadelstichgr. Kol. transparent (-)	gr
123	11.9.57	2	nadelstichgr. Kol. (+)	Kol gr
124	10.9.57	3	Rasenbildung gezackte Kol. (-)	gr ku
125	11.9.57	3	Rasenbildung u. 5 mm Ø große Kol. (-)	gr sp
126	11.9.57	3	Rasenbildung, gezackte Kol. schleimbildend (-)	gr sp
127	11.9.57	3	Rasenbildung, gezackte Kol. schleimbildend (-)	gr sp
128	11.9.57	3	Rasenbildung, gezackte Kolonien	gr sp
129	11.9.57	3	nadelkopfg. Kol. nicht transp. (+++)	gr so
130	11.9.57	3	nadelkopfg. Kolonien Rasenbildung (+)	gr
131	11.9.57	3	Rasenbildung, gezackte, nadel- kopfg. Kol. (+)	gr St
132	11.9.57	3	nadelstich-u. nadelkopfg. nicht transp. Kol. (+++)	gr so
133	11.9.57	3	nadelstichgroße Kolonien	Sp Ko
134	11.9.57	4	Rasenbildung, nicht transp. nadelkopfg. Kol. (++)	gr S
135	11.9.57	4	nadelstichgroße Kolonien	Sp ku
136	11.9.57	4	nadelstichgr. schleimbildende Kol., Rasenbildung (+)	gr S

Färbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol. blau-L.-Agarplatte	Granfärbung	Bemerkungen
mpos. Stäbchen	-	-	
ken	-	-	
ken	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	
ken	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	
mpositive ze Stäbchen	-	-	
mpos. kurze renb. Stäbchen	-	-	
mpos. kurze renbild. Stäbchen	-	-	
mpos. kurze renbild. Stäbchen	-	-	
mpos. kurze renbildende St.	-	-	
mpos., lange, lanke Stäbchen	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	
mpos. lange, schlanke bchen	-	-	
mpos. lange lanke Stäbchen	-	-	
ospilz ken	-	-	
mpos. kurze bchen	-	-	
ospilz, grampos. ze Stäbchen	-	-	
mpos. sporenbildende bchen, Kokken	-	-	

Tabelle A
Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gram
137	11.9.57	4	nadelstichgr.u.nadelkopfg. Kolonien (+++)	gram Kokk
138	11.9.57	4	nadelstichgr.Kol. Rasenbildung (+++)	Kokk gram
139	11.9.57	4	nadelstichgr. u. 5 mm Ø große Kolonien (+++)	gram Kokk
140	11.9.57	4	nadelkopfg.Kol. Rasenbild. Schleimbildung (++)	gram Kokk
141	11.9.57	4	nadelstichgr.u.einzelne nadelkopfg. Kol. (+++)	Kokk Stäb
142	11.9.57	4	nadelkopfg.nicht transp. Kolonien (++)	gram Stäb
143	11.9.57	4	Rasenbildung, einzelne nadel- stichgr. Kol. (-)	gram Stäb
144	12.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	Spro kurz
145	12.9.57	1	große schleimbildende Kolonien (-)	gram Stäb
146	12.9.57	1	nadelkopfg. nicht trans - parente Kol. (+++)	Kokk
147	12.9.57	2	nadelstich-u.nadelkopfg. nicht transp. Kol. (+++)	Kokk
148	12.9.57	2	-	
149	12.9.57	2	nadelstichgr.transparente Kolonien (-)	Spro kurz
150	12.9.57	3	nadelstichgr. u.nadelkopfg. Kolonien (+++)	Kokk
151	12.9.57	3	nadelstichgr. transpar. Kol. nadelkopfg.Kol. (+++)	gram Kokk
152	12.9.57	3	nadelstichgr. u.nadelkopfg. nicht transp. Kol. (++)	Kokk
153	12.9.57	4	nadelstichgroße Kolonien (+)	Spro Kokk

Färbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
pos. kurze Stäbchen en	-	-	
en pos. Stäbchen	- -	-	
pos. kurze Stäbchen en	-	-	
pos. Stäbchen en	-	-	
en, grampos. chen	-	-	
pos. kurze chen	-	-	
positive chen	-	-	
Spilz, grampos. e Stäbchen	-	-	
pos. sporenbild. chen	-	-	
en	-	-	
en	-	-	
-	-	-	
Spilz, grampos. e Stäbchen	-	-	
en	-	-	
pos. Stäbchen en	-	-	
en	-	-	
Spilz en	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gr
154	12.9.57	4	nadelkopfgr. nicht transp. Kolonien (++)	Kokk
155	12.9.57	4	nadelstichgr. transparente Kolonien (+)	gram kurz
156	12.9.57	4	nadelstichgroße Kolonien (+++)	Kokk kurz
157	14.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	gram
158	14.9.57	1	nadelstichgr. nicht transp. Kolonien (++)	Kokk
159	14.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kol. (++)	gram Stäb
160	14.9.57	1	-	
161	14.9.57	2	-	
162	14.9.57	2	nadelstichgr. nicht transpar. Kolonien (++)	Spr
163	14.9.57	2	nadelstichgr. Kol. Rasenbildung (+++)	Spr
164	14.9.57	3	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	Spr
165	14.9.57	3	Rasenbildung, nadelkopfgr. nicht transp. Kol. (-)	gram Stäb
166	14.9.57	3	Rasenbildung, gezackte schleimbild. Kol. (-)	gram schl
167	14.9.57	4	nadelstichgr. transparente Kolonien (++)	gram Stäb
168	14.9.57	4	nadelstichgr. transparente Kolonien (++)	gram Stäb

Färbung	Wachstum auf Tryp- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
en	-	-	
positive e Stäbchen	-	-	
en, grampos. e Stäbchen	-	-	
pos. Stäbchen	-	-	
en	-	-	
positive, kurze chen	-	-	
-	-	-	
-	-	-	
Spilz, Kokken	-	-	
Spilz, Kokken	-	-	
Spilz	-	-	
pos. schlanke chen	-	-	
positive anke Stäbchen	-	-	
positive ovoide chen	-	-	
positive ovoide chen	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gr
169	17.9.57	1	5 mm $\emptyset$ große u. nadelstichgr. Kolonien (+++)	K
170	17.9.57	1	Rasenbildung, nadelstich-u. nadelkopfg. Kol. (++)	S K
171	17.9.57	1	Rasenbildung (-)	g bi
172	17.9.57	1	Rasenbildung u. 5 mm $\emptyset$ große Kol. (-)	g sp
173	17.9.57	1	Rasenbildung (-)	g
174	17.9.57	2	-	
175	17.9.57	2	-	
176	17.9.57	2	Rasenbildung, nadelstichgr. transpar. Kolonien (+++)	g la
177	17.9.57	2	nadelstichgroße Kolonien (++)	Ko ku
178	17.9.57	2	nadelstichgr. transparente Kolonien	gr ku
179	17.9.57	3	Rasenbildung (-)	gr bi
180	17.9.57	3	Rasenbildung u. 5 mm $\emptyset$ große nicht transp. Kol. (-)	gr
181	17.9.57	3	nadelstichgr. nicht transp. Kolonien (+)	Ko St
182	17.9.57	3	nadelstichgr. u. nadelkopfg. transpar. Kol. (+++)	gr sc
183	17.9.57	3	nadelstichgr. u. nadelkopfg. Kolonien (+++)	gr St
184	17.9.57	4	Rasenbildung, 5 mm $\emptyset$ nicht transparente Kol. (+++)	Ko gr
185	17.9.57	4	über 5 mm $\emptyset$ große schleim- bildende Kol. (-)	gr

Färbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
ken	-	-	
roßpilz ken	-	-	
mpositive, sporen- dende Stäbchen	-	-	
mpositive renb. Stäbchen	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	
-	-	-	
-	-	-	Stamm VII Stamm VIII
mnegative, schmale ge Stäbchen(+++)	-	-	
ken, grampos. ke Stäbchen	-	-	
mpositive ke Stäbchen	-	-	
mpositive, sporen- d. Stäbchen	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	
ken, grampos. kurze bchen	-	-	
mpositive lanke Stäbchen	-	-	
mpositive, schlänke bchen	-	-	
ken mpos. Stäbchen	-	-	
mpos. Stäbchen	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gram
186	17.9.57	4	nadelkopfgr. nicht transp. Kolonien	grampos Kokken
187	17.9.57	4	Rasenbildung, nadelkopfgr. nicht transp. Kol. (+++)	grampos Kokken
188	17.9.57	4	Rasenbildung, nadelstich- u. nadelkopfgr. Kol. (+++)	grampos Kokken
189	18.9.57	1	Rasenbildung (-)	grampos Stäbche
190	18.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (+)	grampos Kokken
191	18.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	grampos
192	18.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kol. u. 5 mm ϕ Kol. (+)	schlank grampos
193	18.9.57	1	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	schlank grampos
194	18.9.57	2	-	-
195	18.9.57	2	-	-
196	18.9.57	2	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	grampos Stäbche
197	18.9.57	2	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	grampos Stäbche
198	18.9.57	2	nadelstichgr. transp. u. nicht transp. Kol. (+)	Kokken grampos
199	18.9.57	3	Rasenbildung gezackte Kol. (-)	grampos Stäbche
200	18.9.57	3	Rasenbildung über die ganze Platte (-)	grampos Stäbche
201	18.9.57	3	nadelstichgr. transparente Kolonien (+)	grampos Stäbche

Prüfung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Graufärbung	Bemerkungen
Stäbchen	-	-	
Stäbchen	-	-	
Stäbchen	-	-	
sporenbild.	-	-	
tive Stäbchen	-	-	
Stäbchen	-	-	
lange Stäbchen	-	-	
lange Stäbchen	-	-	
	-	-	
	-	-	
tive, ovoide	-	-	
tive, ovoide	-	-	
Stäbchen	-	-	
sporenbild.	-	-	
sporenbild.	-	-	
ovoide	-	-	

Tabelle A

Fortsetzung

Protok. nummer	Datum der Untersuch.	Untersuch. Material	Wachstum auf Bromkresolpurpur- Laktose-Agarplatte Säurebildung ()	Gr
202	18.9.57	3	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	gramp Stäbch
203	18.9.57	3	nadelstichgr. transparente Kolonien (-)	gramp Stäbch
204	18.9.57	4	nadelstichgr., 5 mm $\emptyset$ große Kol. Rasenbildung (+++)	gramp schla
205	18.9.57	4	Rasenbildung, 5 mm $\emptyset$ große Kolonien (-)	gramp Stäbch
206	18.9.57	4	nadelstichgr. u. 5 mm $\emptyset$ große Kol. Rasenbildung (+++)	gramp Stäbch
207	18.9.57	4	nadelstichgr. u. nadelkopf- gr. Kol. Rasenbildung (++)	gramp Stäbch
208	18.9.57	4	5 mm $\emptyset$ große Kol. (-) und nadelstichgr. Kol. (+)	gramp Stäbch

Färbung	Wachstum auf Trypa- flavin-Bromthymol- blau-L.-Agarplatte	Gramfärbung	Bemerkungen
positive ovoide en	-	-	
positive ovoide en	-	-	
s. lange te Stäbchen	-	-	
s. porenbild. en	-	-	
s. lange, schlanke en	-	-	
s. lange, schlanke en	-	-	
s. sporenbildende en u. Kokken	-	-	

Tabelle B

Differenzierung der isolierten Stämme nach biochemischem Verhalten in der "Bunten Reihe".

	Glukose		Saccharose		Laktose		Mannit		Adonit	Salizin	Citrat	Indol	Vog.-Prosc.	Methylrot
Stamm I	S	G	S	G	S	G	S	G	+	+	-	-	+	-
Stamm II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Stamm III	+	+	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Stamm IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Stamm V	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Stamm VI	+	+	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Stamm VII	(+)	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Stamm VIII	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Zeichenerklärung:

+ = positiv

S = Säurebildung

- = negativ

G = Gasbildung

(+) = schwach positiv

Tabelle C

IMViC - Reaktionen der isolierten Stämme

Ergebnis der Objektträger-Schnellagglutination.

	Indol	Methylrot	Vog.-Proscv	Citratsp.	Coli-Serum 25, 26, 86	Coli-Serum 55, 111
Stamm I	-	-	+	-		
Stamm II	-	-	+	-		
Stamm III	+	+	-	-	-	-
Stamm IV	-	-	+	-		
Stamm V	+	+	-	-	-	-
Stamm VI	+	+	-	-	-	-
Stamm VII	-	-	+	-		
Stamm VIII	-	-	+	-		

Zeichenerklärung:

+ = positiv

- = negativ

ärb

itiv

n

itiv

n

. la

e St

. po

n

. lar

n

. lar

n

. spo

n u.

Zusammenfassung:

Es wurden 48 Proben von Pelargon (1) untersucht. Nur in einem Fall (Protokoll Nr. 29) konnten auf der Trypaflavin-Bromthymolblau-Laktose-Platte Kolonien festgestellt werden, deren mikroskopische Differenzierung koliforme gramnegative Stäbchen ergab. Der gefundene Stamm wurde als Stamm IV der späteren Differenzierung zugeführt.

Medon (2) wurde 57 mal untersucht. In zwei Fällen ergab die mikroskopische Untersuchung der auf den Trypaflavin-Bromthymolblau-Laktose-Platten festgestellten Kolonien koliforme, gramnegative Stäbchen. (Protokollnummern 15 und 3). Beide Stämme erschienen bei der späteren Differenzierung als Stamm I und Stamm III. In einem Fall (Protokollnr. 176) wurden auf der Bromthymolblau-Laktose-Agar-Platte Kolonien gefunden, die auf der Trypaflavin-Bromthymolblau-Laktose-Agarplatte kein Wachstum zeigten. Bei der mikroskopischen Untersuchung eines gramgefärbten Ausstrichpräparates unterschieden sie sich außerdem von allen übrigen gefundenen gramnegativen coliformen Keimen durch ihre längere Form. Dennoch wurden 2 Kolonien als Stamm VII und Stamm VIII zur späteren Differenzierung isoliert.

Probon (3) gelangte in 52 Fällen zur Untersuchung. In insgesamt 3 Fällen konnten auf der Trypaflavin-Bromthymolblau-Laktose-Agarplatte gramnegative koliforme Keime gefunden werden, die als Stamm II (Protokollnummer 17), Stamm V (Protokollnummer 94) und als Stamm VI (Protokollnummer 98) der späteren Differenzierung zugeführt wurden.

Die Untersuchung von Humana (4) ergab bei allen durchgeführten 51 Proben in einem Falle einen Befund von gramnegativen koliformen Keimen.

In der Tabelle B sind die Ergebnisse der biochemischen Prüfung der in Tabelle A als verdächtig angegebenen Stämme I - VIII aufgeführt.

Aus dem biochemischen Verhalten der einzelnen Stämme ist ersichtlich, daß nur die Stämme III, V und VI als *Escherichia coli*-Stämme anzusprechen sind.

Nicht nur das Verhalten auf den verwendeten Nährböden, sondern auch der von Kauffmann angegebene Schlüssel zur Differenzierung von *E. coli* (IMViC) (siehe auch Tabelle C) bestätigt die bereits gestellte Diagnose.

Nach dem IMViC gelten folgende biochemischen Leistungen als typisch für *Escherichia coli*:

Indol	+	+	-
Methylrot	+	-	+
Vog.-Prosc.	-	-	-
Citrat	-	-	-

Andererseits zeigt *Aerobacter aerogenes* nach dem IMViC folgende Eigenschaften:

Indol	-	-	-
Methylrot	-	-	-
Vog.-Prosc.	+	+	-
Citrat	+	-	+

In der Tabelle C ist außer dem IMViC-System auch das Ergebnis der Probeagglutination mit den beschriebenen Coliseren angegeben. In keinem Fall konnte ein positiver und damit auf Dyspepsie-Coli hinweisender Befund ermittelt werden.

Damit steht fest, daß in 208 Proben nur drei mal = rd. 1,5% *Escherichia coli* in Trockenmilchproben ermittelt werden konnten. Aus der Tabelle A ergibt sich, daß die verschiedenen Trockenmilchpulver nicht als unbedingt

imfrei anzusehen sind. Dies mag zum Teil auch daran liegen, daß die Aufbewahrung zwar in geschlossenen Büchsen in der Küche der Kinderklinik erfolgte, wobei aber wegen der Entnahme für den laufenden Verbrauch ein Schutz gegen Infektion von außen nicht gewährleistet ist. Diese Tatsache ist zu bedenken, daß unter solchen Umständen stets die Möglichkeit vorhanden ist, daß solche Nahrungsmittel sekundär auch einmal mit pathogenen Keimen infiziert werden können.

- - - - -

LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) ADAM, A. Wochenschrift, Deutsche Medizinische, Stuttgart,
78. J. S. 1250-1252 (1953)
- 2.) ADAM, A. JB.Kinderheilk. 101, 295 (1923)
- 3.) ADAM, A. Säuglingsenteritis, Georg Thieme-Verlag (1956)
- 4.) BECKER, R. I.-D. Giessen 1950
- 5.) BERGEY u.Mitar- Manual of Det.Bacteriology VI. Ed.Baltimore
beiter: (1948)
- 6.) BRAUN, O.H. Das Problem der Pathogenität v.E.coli im
Säuglingsalter. Erg. d. inneren Med. u. Kinder-
heilkd.Monographie (53)
- 7.) BRAUNE, J.F. Zentralblatt f.Bact. 164.Folge, 338-343 (1955)
- 8.) DAHLBERG: The Milk Messenger 31,9 (1954)
- 9.) EDELING, C. Die Milchwissenschaft, Heft 1,88-95 (1947)
- 10.) EDWARDS: zit.nach Braun, zit.nach Fay,H.:
Coliprobleme bei Mensch u.Tier, Antrittsrede als
Privatdozent gehalten am 4.Dez. 54 in der Aula
der Universität Zürich
- 11.) ERKENS, R. Zum Vorkommen besonderer Colitypen in Milch und bei
Schlachttieren und zur Prüfung der Coli-Bakterien
mit den Seren 0111:B4 und 055:B5 I.-D., Hannover
(53)
- 12.) F E Y, H. Coliprobleme bei Mensch u.Tier, Antrittsrede als
Privatdozent
- 13.) F E Y, H. Schweiz. Z. Path.Bakt. 19, 543 (1956)
- 14.) FINDLAY, J.D. Smith, J.A.B. u. Lea, G.H.:
Dairy Research 14,165-174 (45)
- 15.) FINKELSTEIN, zit. nach Kraus, H.:
Der Lebensmitteltierarzt 5, 89 (1954)

- 16.) GIERTMÜHLEN, F. Sonderabdruck aus "Kinderärztliche Praxis"
12.J. Heft 5 (1941)
- 17.) GOLDSCHMIDT, R. Jb. Kinderheilkd. 139, 318 (33)
- 18.) HEYMANN, zit.nach Hiller, Ch.:
Zentralblatt f.Bakt.166, 335 (1956)
- 19.) HILLER, Ch. Zentrallblatt f.Bakt.166,335-353 (1956)
- 20.) HEISS, R. Lebensmitteltechnologie, Bergmann-Verlag,
München, 181
- 21.) JENSEN zit.nach Fey,H.:
Coliprobeme bei Mensch u. Tier
- 22.) JUST HATMAKER u.
GABLER-SALITE zit.nach Roemmele u.Westphal:
Die Milchwissenschaft 4, 134 (1957)
- 23.) KAUFFMANN, F.: Enterobacteriaceae 2. Aufl. Ejnar
Munksgaard. Publisher, Kopenhagen 54
- 24.) KAUFFMANN, F. Schlussbetrachtung zu den Coli-Enteritisvör-
trägen. Intern.Mikrobiologenkongress Rom,
1953 Vol. 4, Sez. XII, pag. 280
- 25.) KELLER, H. Tierärztliche Umschau 7/8 S.124 (1950)
- 26.) KIRSCHSIEPER, H.M. Sonderabdruck aus "Kinderärztliche Praxis"
u. MEHL, H. 23.J., Heft 2 (1955)
- 27.) KLEIN, H. Der Lebensmitteltierarzt 5, 273 (1954)
- 28.) KNIPPSCHILD zit. nach Kraus, H. : Der Lebensmitteltierarzt
5, 89 (1954)
- 29.) KRAUS, H. Der Lebensmitteltierarzt 5,89 (1954)
- 30.) LEMKE, H. Monatsschrift f.Kinderheilkunde 99, 409
(1951)
- 31.) MEYER, G. Sonderabdruck aus der Wochenschrift
"Die Medizinische Welt" zur Verfügung ge-
stellt von den Nestle-Werken

- 32.) MOEGLE, H. Tierärztliche Umschau 11/12 S. 209 (1953)
- 33.) MOHR, W. u. Deutsche Molkerei-Zeitung 73, 1301 (1952)
K. KOENEN:
- 34.) MOLKEREI-ZEITUNG, Süddeutsche Kempten/Allgäu 72, 15, 462 (1951)
- 35.) MOLKEREI-Zeitung, Süddeutsche Kempten/Allgäu 72, 17, 573 (1951)
- 36.) MOLKEREI-ZEITUNG, Süddeutsche Kempten/Allgäu 72, 32, 1019 (1951)
- 37.) MURAE, M. u. Youago Acta Medica 1, 21, (1944)
O.Sakaguschii:
- 38.) NAUMANN, zit. nach Hiller:
Zentralblatt f.Bact. 166,336 (1956)
- 39.) OCKLITZ, H.W., Die Bedeutung pathogener Coliarten (Dyspepsie-
Schmidt, E.F. Coli) für die akuten Durchfallserkrankungen des
Säuglings, Beihefte Arch.f.Kinderh., 28.Heft
(1954)
- 40.) OCKLITZ, H.W., Über das Vorkommen von Dyspepsiecoli bei Erwachse-
Schmidt, E.F. nen, Helvetica Paediatrica Acta 10, 3450 (1950)
- 41.) OLSEN, Jr. und J. of Dairy Science 38, 361 (1955)
Nielsen, A.J.
- 42.) PARR zit.nach Braune, J.F.:
Zentralblatt f.Bact. 164, 339 (1955)
- 43.) PLANK, R. Die Milchwissenschaft 3.J., 146 (1948)
- 44.) PREISS, H. Archiv f.Lebensmittelhygiene, 8, 6, 126-129
(1957)
- 45.) ROEMMELE, O. und Die Milchwissenschaft 4, 133-141 (1957)
Westphal, W.
- 46.) ROLLE u. zit.nach Fey:
BAUMGÄRTEL
Coliprobeme bei Mensch u.Tier. Antrittsrede als
Privatdozent siehe unter 12.)
- 47.) RUBNER zit.nach Hiller, Gh.:
Zentralblatt f.Bact. 166, 336 (1956)

- 3.) SEIDEL, G. Der Lebensmitteltierarzt 5,4 (1954)
- 4.) SCHÖNBERG, F. DTW 60, 351 (1953)
- 5.) STARSETZKI, I. Sonderdruck aus "Kinderärztliche Praxis"
12. Jg. Heft 5 (1941)
- 6.) TODOROFF, A. Die Milchwissenschaft Heft 1, 28-36 und
Heft 2, 41-55 (1946)
- 7.) ULBRICH, F. Zentralblatt f.Bact. 160, 506 (1953/54)
- 8.) ZEITSCHRIFT der Nestle-Werke:
Annales Nestle, Heft 8 (1956) - Abschnitt
"Diätetische Betrachtungen", Bakteriologische
Betrachtungen zu den Milchkonserven

- - - - -

Am Ende meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. H. K e l l e r
für die Überlassung des Themas und seine stets gezeigte Hilfsbereit-
schaft herzlich danken.

Den Herren Dr. Buss und Dr. Lang sage ich meinen besten Dank für die
großzügige Unterstützung und ihre guten Ratschläge.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Lehrers August G e m m e r und seiner Ehefrau Anna, geborene Ostheim, wurde ich, Helmut Gemmer, am 2.8.1925 in Bad König im Odenwald geboren.

Nach 4-jährigem Besuch der dortigen Volksschule trat ich im Jahre 1936 in das Ober-Real-Gymnasium Michelstadt ein, das ich im März 1943 mit dem vorläufigen Reifevermerk verließ. Nach 2-jährigem Wehrdienst beim fliegenden Personal der Luftwaffe geriet ich im März 1945 in französische Gefangenschaft und bestand nach meiner Rückkehr am 16. Dez. 1947 in einem Sonderlehrgang am Real-Gymnasium Michelstadt die Reifeprüfung. Nach 3-jähriger Tätigkeit in der Landwirtschaft besuchte ich die höhere Landbauschule Michelstadt, die ich im Dez. 1951 als staatl. gepr. Landwirt verließ. Im Sommersemester 1952 begann ich mein Studium an der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität zu Gießen. Im Anschluß an das WS 1953/54 bestand ich die tierärztliche Vorprüfung und am 22.1.1957 die tierärztliche Prüfung.

Nach Ableistung meiner Praktikantenzeit bei Herrn Tierarzt Dr. Stein, Erbach, wurde mir am 1. September 1957 die Approbation erteilt.

Druck:
Stempel-Kreuter
Giessen